SUMMARY
the results of comparative investigation of dynamics of morphological and biochemical blood characteristics in searching and rescue dogs during feeding by "Dog Chow" and "Royal Canin" foods featured by various energetic supply in high altitude conditions are represented; their influence to dogs' abilities is showed.

Keywords: searching and rescue dogs; high altitude conditions; blood composition; energetic supply.

Литература

1. Grandjean D., Sept B. Specificites pathologiques du chien de traineau en situation de course /Recl. Med. Vet., 1991, Vol. 167 – P. 763-773.
2. Grandjean D., Sergheraert R., Valette I.P., Sriss F. Biological and nutrinional consequences of work at high altitude in search and rescue dogs / J. Nutr., 1998, Vol. 128, - P. 26945-26975.
3. Nakanashi K., Tajima F., Nakamura A. e.a. Effect of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats / J. Physiol., 1995, Nb. 489 – P. 869-876.
4. Буров С.В., Левченко Ю.И. Влияние аминокислотного состава корма на некоторые показатели обмена веществ служебных собак породы немецкая овчарка // Инновации в науке, образовании и бизнесе – основа эффективного развития АПК. Матер. междунар. науч.-практ. конфер. 1-4 февр. 2011 г., T.I.- п. Персиановский: 2011.- С. 58-61.

Контактная информации об авторах для переписки
Буров Сергей Викторович – д.биол. н., профессор кафедры анатомии, физиологии домашних животных, биологии и гистологии, ФГБОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет». Ростовская обл. Октябрьский р-он, п. Персиановский ул Ростовская 37, тел. дом (86360)36142, раб. (86360)36540, e-mail:burovsv@mail.ru.
Левченко Юлия Игоревна –соискатель кафедры анатомии, физиологии домашних животных, биологии и гистологии, ФГБОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет». Тел. 89034012168

УДК 636.5:611.4:619:616.98.578

Громов И.Н., Селиханова М.К., Алиев А.С. Бурлаков М.В.
(УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная ордена академия ветеринарной медицины», Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»)

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕННИЯ В КОСТНОМ МОЗГЕ И КРОВЫ ЦЫПЛЯТ ПРИ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ

Ключевые слова: вирус,анемия,цыплята,морфологические изменения.

Введение. Инфекционная анемия – высококонтагиозная вирусная болезнь цыплят раннего возраста, характеризующаяся поражением кроветворной и иммунной систем, серозными отеками подкожной клетчатки и некрозами кожи [1, 4]. Возбудителем болезни является ДНК-содержащий вирус, относящийся к семейству Circoviridae, роду Gyrovirus [3]. Вирус репродуцируется в кроветворных клетках красного костного мозга вызывая массовую гибель клеток всех ростков гемоцитопоэза с последующим замещением красного костного мозга на желтый костный мозг («жирный»). Дефицит предшественников Т- и В-лимфоцитов вызывает развитие атрофии лимфоидных клеток в тимусе, бурсе Фабрициуса, периферических тканях иммунитета. поражение эритропоэзного кроветворения приводит к развитию общей анемии. На фоне приобретенного иммунодефицита активизируется условно-патогенная микрофлора, появляются некрозы в коже. Инфекционная анемия часто протекает в ассоциации с болезнями Марека и Гамборо [1, 10].

Болезнь впервые зарегистрирована в Японии в 1979 году [1]. В настоящее вре-

мя вспышки инфекционной анемии регистрируются во многих странах с развитым птицеводством. Результаты исследований В.А. Лобанова и др. [9] свидетельствуют о широком распространении вируса инфекционной анемии цыплят в птицеводческих хозяйствах Российской Федерации, Украины и Республики Беларусь. В крупных птицеводческих хозяйствах промышленного типа инфекционная наносит значительный экономический ущерб, который обусловлен гибелью птицы, низкими приростами и оплатой корма, снижением категорийности тушек, повышенной выбраковкой, расходами на лечение вторичных инфекций и проведение соответствующих ветеринарно-санитарных мероприятий [4].

В отечественной и зарубежной литературе имеется недостаточно сведений, посвященных изучению патоморфологических изменений в органах и тканях цыплят при инфекционной анемии. Вместе с тем, патологоанатомическое и гистологическое исследование позволяет в кратчайший срок поставить предварительный диагноз, что очень важно для организации и проведения предварительных противоэпизоотических мероприятий, и наметить направление дальнейших лабораторных исследований.

В связи с этим целью нашей работы явилось изучение структурных изменений в костном мозге и крови птиц при экспериментальном заражении вирусом инфекционной анемии.

Материал и методы. Исследования были проведены на СПФ-цыплятах суточного возраста. Птицы была подобрана по принципу аналогов и разделена на 2 группы, по 15 цыплят в каждой. Цыплят 1 группы в суточном возрасте внутримышечно заражали вирулентным штаммом вируса инфекционной анемии. Вируссодержащим материалом служил стерильный 20%-ный гомогенат печены спонтанно больных цыплят-бройлеров, обработанный по общепринятой методике. Интактные цыплята 2 группы служили контролем. За всей птицей было установлено клиническое наблюдение. На 21 день после заражения цыплят убивали для проведения морфологических исследований.

При проведении морфологических исследований кровь получали из яремной и крыловой вен [5]. Мазки крови птиц готовили на тонких обезжиренных предметных стеклах, высушивали на воздухе, фиксировали в метаноле и окрашивали по Романовскому–Гимза [5]. Лейкограмму выводили на основании подсчета 100 клеток. Дифференциацию Т– и В–лимфоцитов проводили с учетом размера клеток, величины ядра, цитоплазмы, интенсивности их окраски.

Для проведения морфологических исследований костного мозга отбирали кусочки бедренной кости, фиксировали в 10% растворе формалина, проводили их декальцинацию 1 н раствором уксусной кислоты по Лилли [7] в нашей модификации. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике, а также замораживанием [8]. Обезвоживание и парафинирование материала проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на роторном (маятниковом) микротоме «MICROM HM 340 E».

Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали по Паппенгейму [5]. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

Миелограмму выводили, исходя из подсчета 1000 клеток в мазках, окрашенных по Романовскому–Гимза [5]. При подсчете костномозговых клеток поддерживались унитарной теории кроветворения, дополненной И.А. Болотниковым и Ю.В. Соловьевым [2].

Наряду с оценкой миелограммы выводили парциальные формулы различных групп клеток костного мозга [5, 6]: лейкоэритробластический индекс – соотношение костномозговых элементов лейкоцитарного и эритроцитарного ростков; костномозговой индекс созревания псевдоэозинофилов – отношение молодых клеток псевдоэозинофильной группы (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) к зрелым псевдоэозинофилам (палочкоядерные, сегментоядерные); костномозговой индекс созревания эозинофилов – соотношение молодых (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) и зрелых (палочкоядерные, сегментоядерные) клеток эозинофильной группы; костномозговой индекс созревания эритронормобластов – отношение числа гемоглобинизированных форм нормоцитов (полихроматофильные нормоциты) к количеству всех клеток эри-

троидного ряда.

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований и обсуждение. При гистологическом исследовании костного мозга интактных 21-дневных цыплят установлено, что строма органа была образована соединительнотканными трабекулами, отходящими от эндооста кости. В метафизарной области выявлялись также участки хрящевой ткани (рисунок 1). В эндотелиальной выстилке капилляров, а также среди элементов ретикулярной ткани локализовались макрофаги, содержащие гранулы железосодержащих пигментов. В петлях ретикулярной сети располагались молодые и зрелые гемопоэтические элементы. Развивающиеся дифтероны кроветворных клеток располагались островками. При этом эритробластические островки часто формировались в непосредственной близости от макрофагов (рисунок 2). Созревающие гранулоциты также лежали в виде островков. Клетки тромбоцитарного ряда (тромбобласты, протромбоциты и тромбоциты) локализовались, как правило, рядом с синусоидными капиллярами. Вокруг кровеносных сосудов встречались также небольшие группы лимфоцитов и моноцитов. Среди клеток костного мозга преобладали малодифференцированные клетки. Желтый костный мозг выявлялся в диафизах трубчатой кости. Он состоял из ретикулярной ткани, которая местами была замещена скоплениями липоцитов.

В костном мозге птиц опытной группы выявлялись признаки атрофии миелоидной (кроветворной ткани). Так, кроветворные были представлены лишь небольшими группами или диффузными скоплениями, которые локализовались вокруг синусоидных капилляров и артериол (рисунки 3; 4). Характерные полноценные кроветворные островки выявлялись крайне редко. При этом основные структурные изменения со стороны гемопоэтических элементов регистрировались чаще в центральной части органа и значительно реже – в пространствах под периостом (рисунок 5). Учитывая характер морфологических изменений в костном мозге цыплят в отдаленные сроки исследований (на 21 день после заражения) можно предположить, что они были обусловлены длительной репликацией вируса в клетках-мишенях (предшественниках эритроцитов и гранулоцитов).

Наряду с процессами аплазии эритроидного и гранулоцитарного кроветворения в костном мозге большинства подопытных птиц отмечена выраженная гиперплазия клеток лимфоидного ряда. При этом крупноочаговые скопления лимфоцитов различной степени зрелости визуализировались в периферической части органа непосредственно под периостом (рисунок 6). Указанные изменения носили, скорее всего, компенсаторно-приспособительный характер.

В миелограмме цыплят опытной группы мы отмечали достоверное уменьшение в 1,3 раза общего количества гранулоцитов по сравнению с контролем. Изменение данного показателя происходило в основном за счет клеток псевдоэозинофильного ряда.

Общее количество эритробластических клеток в миелограмме подопытных птиц уменьшалось с 47,00±1,18 % (контроль) до 33,15±1,24 % (P<0,001), а число лимфоцитов наоборот, увеличивалось в 2 раза (P<0,01). Различия в показателях по тромбоцитарному и моноцитарному рядам клеток между 1 и 2 группами птицы были недостоверными. В костном мозге птиц опытной группы отмечено также снижение лейкоэритробластческого индекса в 1,8 раза (P<0,01), а также индексов созревания эозинофилов в 1,4 раза (P<0,05) и псевдоэозинофилов в 1,3 раза (P>0,05) по сравнению с контрольными значениями. Указанные изменения являются показателем аплазии клеток гранулоцитарного ростка под воздействием цирковируса.

В мазках крови интактных цыплят на 21 день эксперимента выявлялись форменные элементы эритроцитарного, тромбоцитарного, моноцитарного, миелоидного и лимфоидного ростков.

Структурные компоненты клеток имели четкие контуры, хорошо прокрашивались. Патологических форм клеток в мазках крови цыплят контрольной группы в этот срок исследований не обнаруживалось. В лейкограмме интактных птиц преобладающими формами являлись Т-лимфоциты (27,25±3,09 %), В-лимфоциты (17,00±3,09 %) и сегментоядерные псевдоэозинофилы (27,50±5,06 %). В достаточном количестве выявлялись также базофилы, эозинофилы и моноциты. Наличие в лейкограмме относительно большого числа юных (4,25±0,84 %) и палочкоядерных псевдоэозиновилов (9,25±1,40 %) связано, очевидно, с возрастными особенностями кроветворения цы-

Рисунок 1. Морфологическая структура костного мозга интактных птиц 21-дневного возраста. Окраска по Паппенгейму. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 120

Рисунок 2. Преобладание генераций эритроцитов в костном мозге цыплят контрольной группы. 21 день эксперимента. Окраска по Паппенгейму. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 480

Рисунок 3. Атрофия кроветворных островков в костном мозге цыплят на 21 день после заражения цирковирусом. Окраска по Паппенгейму. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 480

Рисунок 4. Структура костного мозга птиц опытной группы на 21 день эксперимента. Окраска по Паппенгейму. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 480

Рисунок 5. Признаки аплазии миелоидной ткани в костном мозге цыплят на 21 день после заражения вирусом инфекционной анемии. Окраска по Паппенгейму. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 120

Рисунок 6. Активизация лимфоидного кроветворения в костном мозге птиц опытной группы на 21 день эксперимента. Окраска по Паппенгейму. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 120

плят на данном этапе исследования.

При исследовании мазков крови подопытных цыплят выявлены существенные структурные изменения всех форменных элементов, но особенно – клеток эритроидного и тромбоцитарного ростков. Так,

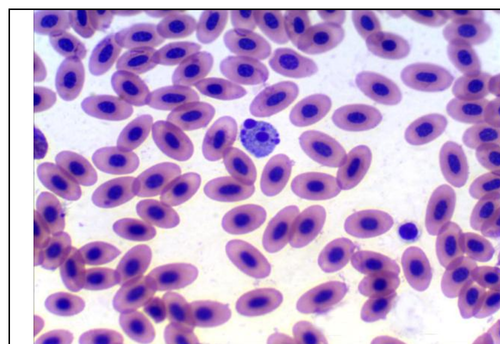


Рисунок 7. Мазок крови цыпленка опытной группы. Формирование апоптозного тельца. 21 день после инокуляции цирковируса. Окраска по Романовскому–Гимза. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 1200

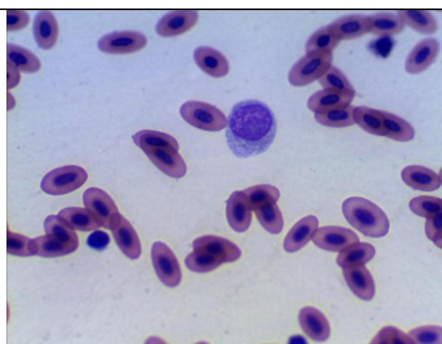


Рисунок 8. Мазок крови цыпленка опытной группы на 21 день после заражения цирковирусом. Окраска по Романовскому–Гимза. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 1200

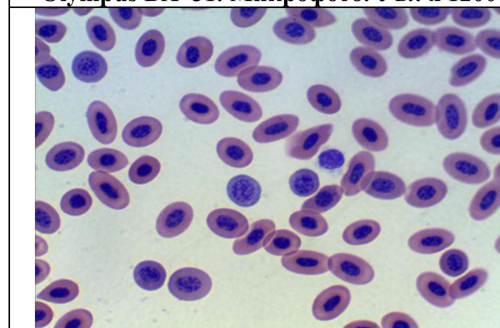


Рисунок 9. Наличие большого количества базофильных нормоцитов в крови подопытных птиц. Полиморфизм эритроцитов. 21 день эксперимента. Окраска по Романовскому–Гимза. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 1200

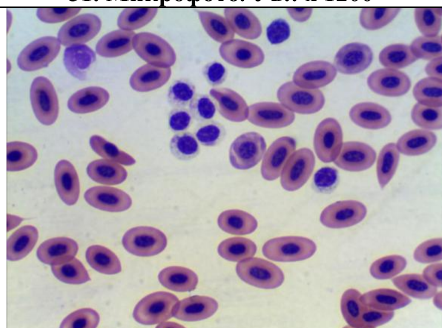


Рисунок 10. Мазок крови цыпленка опытной группы на 21 день эксперимента. Набухание цитоплазмы тромбоцитов с появлением в ней вакуолей и гранул. Окраска по Романовскому–Гимза. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 1200

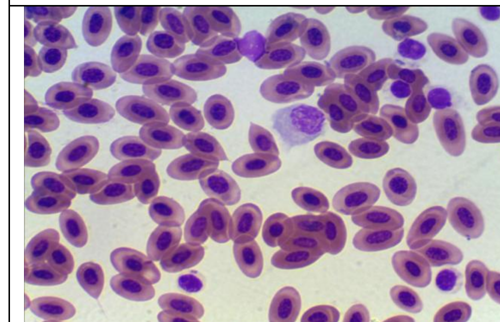


Рисунок 11. Морфологическая картина мазка крови цыпленка подопытной группы. 21 день эксперимента. Окраска по Романовскому–Гимза. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 1200

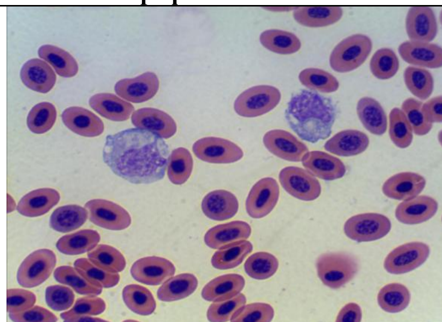


Рисунок 12. Накопление моноцитов в крови цыплят на 21 день после инокуляции цирковируса. Окраска по Романовскому–Гимза. Olympus BX–51. Микрофото. Ув.: х 1200

заражение цыплят цирковирусом приводило к появлению патологических форм эритроцитов, имеющих малые размеры, конденсированный хроматин ядра и перинуклеарные зоны просветления в цитоплазме. Отдельные клетки принимали неправильную форму (округлую или наоборот, удлиненную с заостренными полюсами). Часто выявлялись эритроциты на разных этапах апоптоза (рисунок 7). В отдельных

мазках визуализировались эритроциты, имеющие оксифильные перинуклеарные цитоплазматические включения. Компенсаторно-репаративные процессы со стороны эритроидного ростка характеризовались появлением в мазках большого числа незрелых форм клеток – эритробластов, базофильных, полихроматофильных и оксифильных нормоцитов (рисунки 8; 9).

Изменения со стороны клеток тромбоцитарного ряда характеризовались появлением крупных экземпляров округлой формы, имеющих выраженную вакуолизацию цитоплазмы и мелкие оксифильные гранулы вокруг ядра (рисунок 10). Инокуляция цыплятам цирковируса приводила также к появлению в крови больших зернистых лимфоцитов, имеющих морфологические признаки естественных киллерных клеток. Кроме того, в мазках крови цыплят опытной группы часто выявлялись плазматические клетки различной степени зрелости (рисунок 11). Лейкограмма подопытных птиц характеризовалась достоверным уменьшением, по сравнению с контролем, числа эозинофилов, а также различных форм клеток псевдоэозинофильного ряда. Кроме того, в мазках крови цыплят подопытной группы часто выявлялись гранулоциты в состоянии апоптоза. Указанные изменения сопровождались увеличением в лейкограмме В-лимфоцитов в 2,5 раза ($P<0,05$), а также моноцитов в 5 раз ($P<0,01$; рисунок 12). При этом содержание базофилов и Т-лимфоцитов изменялось недостоверно.

Следует отметить, что изменения в лейкограмме подопытных цыплят коррелировали с морфологической перестройкой костного мозга.

Заключение. Полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что при экспериментальном заражении цыплят цирковирусом в костном мозге птиц развивается аплазия миелоидной ткани, что подтверждается атрофией кроветворных островков, достоверным уменьшением количества клеток эритроцитарного и гранулоцитарного рядов, снижением лейкоэритробластического индекса, а также индексов созревания эозинофилов и псевдоэозинофилов. Наряду с угнетением эритропоэза и гранулоцитопоза в костном мозге подопытных цыплят наблюдается активизация компенсаторно-приспособительных процессов в виде крупноочаговой гиперплазии клеток лимфоидного ростка. Основные морфологические изменения в крови подопытных птиц отмечаются со стороны эритроцитов (уменьшение размера клеток с конденсацией хроматина и просветлением цитоплазмы, появление уродливых форм, развитие апоптоза) и тромбоцитов (увеличение размеров клеток, вакуолизация цитоплазмы с появлением в ней оксифильных гранул). В лейкограмме цыплят под воздействием цирковируса происходит достоверное уменьшение количества эозинофилов в 2,6 раза и псевдозинофилов в 3,5-4,4 раза при одновременном увеличении числа В-лимфоцитов в 2,5 раза и моноцитов в 5 раз. Компенсатарно-приспособительные и регенерационные процессы при экспериментальной цирковирусной инфекции характеризуются активизацией лимфоидного кроветворения в костном мозге, появлением бластных и незрелых форм эритроцитов, зернистых лимфоцитов, а также плазматических клеток в крови.

Резюме: Экспериментальное заражение СПФ-цыплят вирусом инфекционной анемии цыплят вызывает угнетение эритроцитарного и грану-лоцитарного кроветворения в костном мозге, снижение парциальных формул костномозговых клеток, а в крови - нарушение структуры эритроцитов и тромбоцитов, уменьшается число эозинофилов и псевдозинофилов. Регенерационные процессы характеризуются активизацией лимфоидного кроветворения в костном мозге, а также появлением зернистых лимфоцитов, малодифференцированных форм эритроцитов в крови.

SUMMARY
Experimental infection of SPF-chickens virus infection of anemia causes inhibition chicken erythrocyte and granulocyte hematopoiesis in bone marrow, reducing the partial formulas of bone marrow cells and blood - a violation of the structure of red blood cells and platelets, decreased the number of eosinophils and psevdozinofilov. Regeneration processes are characterized by the activation of lymphoid hematopoiesis in bone marrow, as well as the appearance of granular lymphocytes, little-differentiated forms of red blood cells.

Keywords: virus, anemia, chicken, morphological changes.

Литература

1. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц / Б.У. Кэлнек [и др.] ; под ред. Б.У. Кэлнека, Х. Джона Барнса, Чарльза У. Биерда и др.; пер. с англ. И. Григорьева, С. Дорош, Н. Хрущева, И. Суровцев. – М.: АКВАРИУМ БУК, 2003. – С. 829–849.
2. Болотников, И.А. Гематология птиц / И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев. – Ленинград : Наука, 1980. – 115 с.
3. Гусева, Е.В. Инфекционная анемия цыплят : Обзор литературы / Е.В. Гусева, Т.А.Сатина, Т.А. Фомина // ВНИИЗЖ. - Владимир, 1997. - 72 с.
4. Инфекционная анемия цыплят / А.С. Алиев [и др.] // Ветеринарная медицина. – 2011. - №1. – С. 49-53.
5. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Минск : Ураджай, 1986. – 183 с.
6. Коленкин, С.М. Основные правила исследования пунктата костного мозга / С.М. Коленкин, А.И. Михеева // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. - №2. – С.41-43.
7. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли ; под ред. В.В. Португалова ; пер. с англ. И.Б. Краснов [и др.]. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
8. Микроскопическая техника: Руководство / Д.С. Саркисов [и др.] ; под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
9. Серологический мониторинг инфекционной анемиии цыплят и молекулярно-биологическая характеристика изолятов вируса / В.А. Лобанов [и др.] // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2003. - №2. - С.66-69.
10. Турицына, Е.Г. Критерии морфологической оценки иммунодефицитов птиц / Е.Г. Турицына // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2009. - № 5. - С. 73-77.

Контактная информации об авторах для переписки

И.Н.Громов, доцент, к.в.н.**, М.К. Селиханова,** аспирант, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная ордена академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

А.С.Алиев,профессор,д.в.н., **М.В.Бурлаков,** аспирант, ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

УДК: 619:616.2:616.33/.34:636.4

Бригадиров Ю.Н., Казимиров О.В., Борисенко С.В., Бердников М.Л., Михайлов Е.В., Модин А.Н., Борисенко Н.А., Манжурина О.А., Давыдова В.В.
(ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии РАСХН)

КОМПЛЕКСНАЯ СИСТЕМА МЕРОПРИЯТИЙ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ И БОРЬБЕ С РЕСПИРАТОРНЫМИ И ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫМИ БОЛЕЗНЯМИ СВИНЕЙ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗВОДСТВА

Ключевые слова: свиньи, мониторинг, антимикробные препараты, вакцины.

В условиях интенсивного ведения свиноводства увеличивается риск возникновения как моно -, так и смешанных инфекций среди свиней различных возрастных групп, вызываемых вирусами и бактериями на фоне многочисленных нарушений технологии содержания и кормления, а также стрессовых ситуаций. Углубленное изучение этиологической структуры их вскрыло поразительную картину многообразия смешанных инфекций, протекающих тяжелее, длительнее, часто с осложнениями и высокой летальностью [1].

Анализ структуры заболеваемости свиней по регионам Российской Федерации и в целом по стране показывает, что за последние 10-15 лет на фоне относительно стабильного эпизоотического благополучия по классическим инфекциям (КЧС, болезнь Ауески, рожа свиней) из года в год более 70% поросят переболевают различными инфекционными заболевания-